

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

**PROCESSING OF LIVE SPECIMEN WITH LASER**

Patent Number: JP63141587  
Publication date: 1988-06-14  
Inventor(s): KIMURA NOBUO; others: 02  
Applicant(s): HITACHI LTD  
Requested Patent: ☐ JP63141587  
Application Number: JP19860286626 19861203  
Priority Number(s):  
IPC Classification: C12N13/00  
EC Classification:  
Equivalents: JP1987511C, JP7014345B

**Abstract**

**PURPOSE:**To improve the perforation probability of a live specimen such as live cell, etc., by collecting suspended live materials to a specific region using electro- or magnetophoresis and radiating laser beam to the live specimen in the region.

**CONSTITUTION:**A DC power source 16 is connected to L-shaped electrodes 19 fixed to the diagonal positions of a specific container 9. Porous separation membranes 20 are effective in preventing the reach of the variations in pH and temperature of the electrode liquid to the whole specimen container and in smoothening the electrophoresis of the live specimen. The migration of the live specimen 13 takes place by the imposition of electric or magnetic field to XY plane which is perpendicular to the radiation of laser beam in the container 9. The live specimen 13 is transferred to the predetermined region by the migration. The irradiation efficiency can be improved by radiating laser beam to the live specimen in the region.

Data supplied from the esp@cenet database - I2

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

昭63-141587

⑪ Int.Cl.<sup>4</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 昭和63年(1988)6月14日

C 12 N 13/00

7329-4B

審査請求 未請求 発明の数 1 (全4頁)

⑭ 発明の名称 生試料のレーザ加工方法

⑮ 特 願 昭61-286626

⑯ 出 願 昭61(1986)12月3日

⑰ 発 明 者 木 村 信 夫 茨城県土浦市神立町502番地 株式会社日立製作所機械研究所内  
⑱ 発 明 者 三 宅 亮 茨城県土浦市神立町502番地 株式会社日立製作所機械研究所内  
⑲ 発 明 者 細 見 信 行 山口県下松市東豊井794番地 株式会社日立製作所笠戸工場内  
⑳ 出 願 人 株式会社日立製作所 東京都千代田区神田駿河台4丁目6番地  
㉑ 代 理 人 弁理士 小川 勝男 外1名

明 細 書

1. 発明の名称

生試料のレーザ加工方法

2. 特許請求の範囲

1. 生試料にレーザ光を照射して加工を行う生試料のレーザ加工方法において、

該生試料を容器内で浮遊状態とし、

該浮遊状態となつた生試料を電気または磁気泳動によつて所定領域に集合させ、

該所定領域内の該生試料に該レーザ光を照射することを特徴とする生試料のレーザ加工方法。

3. 発明の詳細な説明

〔産業上の利用分野〕

本発明は、生細胞や微生物等の生試料にレーザ光を照射して、生試料の加工を行うものに関する。

〔従来の技術〕

従来、生細胞あるいは微生物(生試料)にレーザ光を照射して生試料の加工を行うものが公知である。これは、例えば、特開昭60-83583号公報に開示されている。特開昭60-83583号

公報には、生細胞にレーザ光を照射して穿孔し、この穿孔した部分からDNAを生細胞内に移入するものが開示されている。

上記したレーザによる生試料の加工を行う装置の構成は、第2図に示される。

第2図において、1は穿孔用レーザ、2は1が可視光でない場合を考慮し、1の光路を見るために設けた参照用レーザである。また3は顕微鏡、4は顕微鏡に組込まれた光路偏向装置である。上記1の穿孔用レーザは、シャッター5を経由して、またこの参照用レーザはそのままの状態光学的インターフェイス6に入射され、ここで両者のレーザが所望の特性に変換された後、両者を同軸にして4の光路偏向装置に入射される。同軸にされたレーザはここで微少な位置決めをされ、対物レンズ7で集光され、ステージ8上に設置された試料ビン9中の試料10に入射される。上記光路偏向装置は第3図のように2個のミラー11、11'とスキャナ12、12'が組込まれ、ここに入射したレーザを試料10のXY方向へ偏向できる構

造になつてゐる。以上のように構成された同装置の使用法の1つに上記ミラー11, 11'を固定し、ステージ(第2図の8)をXY方向に走査する方法がある。この場合、穿孔用レーザをパルスレーザとすると、たとえば第4図の白丸印のようにレーザは試料に照射される。このとき目標に命中する確率は、細胞13の分布状態とレーザの照射密度に依存し、照射密度はレーザ光のパルス数とステージの移動速度に依存する。

〔発明が解決しようとする問題点〕

上記従来技術において、目標の細胞の分布密度が第5図のように低い場合と第4図のように高い場合、白丸印のレーザの照射密度を変えることができる。しかし、当然のことではあるが、細胞に命中する確率は、細胞の分布密度が高い方が高い。

しかし、従来技術はこの細胞の分布密度を制御する点について配慮がされておらず、細胞の分布密度が低い場合、命中する確率は低かつた。また生試料の位置は、試料容器の高さ方向で一定でない。そのため、対物レンズの焦点から大きくずれ

た位置にある生試料は、レーザが命中してもエネルギー密度が低くなるため穿孔できない。このように、従来技術の場合、生試料が穿孔される確率は非常に低かつた。

本発明の目的は、生試料が穿孔される確率を高め、高能率の生試料加工を行うことのできる生試料のレーザ加工方法を提供することである。

〔問題点を解決するための手段〕

上記目的は、生試料を容器内で浮遊状態とし、この浮遊している生試料を泳動法(電気泳動法あるいは磁気泳動法)を利用して所定領域に集合させ、この所定領域内の生試料にレーザ光を照射することによつて達成できる。

〔作用〕

生試料が容器内で浮遊状態となつてゐるので、この容器のレーザ光照射方向と垂直方向のXY平面に電界または磁界を印加することによつて生試料が泳動する。この泳動によつて、生試料が所定領域に移動することとなり、この領域内の生試料分布密度が高まる。したがつてこの高密度になつ

た領域内の生試料に対してレーザ光を照射すると、照射効率が高まる。

〔実施例〕

第6図は本発明の一実施例における全体構成図、第6図における試料容器9の平面図を第1図、また第1図のA-A及びB-B断面図を第7図に示す。

第1図において、9は試料容器、8は遺伝子等を溶かした培養液、13は生試料、19は試料容器の対角に固定されたL形の電極で直流電源16が負荷されるようになってゐる。20は多孔質の隔離膜で、電極近傍の電解液のpH変化及び温度変化等が試料ビン全体に及ぶのを防ぎ、生試料の電気泳動を円滑にする。

また、20はこの隔離膜を支持する支柱である。

試料容器のふたは、第7図の9-1に示すように対物レンズ7の光軸に対し垂直である。一方、試料容器の底面9-2は、上記ふたに対し傾斜している。上記のように構成された装置において、電極19に通電すると、生試料は電気泳動により

第1図の矢印のように移動する。その結果、第1図に示す面内での生試料の分布密度は増加する。一方、この移動方向に対し試料容器の形状は、第7図のように断面積が減少するためC部の生試料の分布密度は非常に高くなる。この高密度状態においては、細胞の動きが制約されるため、実質的に固定されたと同様となる。

一方、このような生試料は、第6図のTVカメラ14及び生試料径検出器により、生試料の平均的な直径が測定される。パルスレーザの照射密度は、穿孔用レーザのパルス繰り返し数が一定の場合、ステージ8の移動速度に依存しており、上記、生試料の平均的な直径に応じた最適のステージ速度が、ステージコントローラ17により求められ、その速度にステージが制御される。なお、ステージの移動速度を一定にして、穿孔用レーザ1のパルス繰り返し数の増減で制御することもできる。

以上は生試料の移動に電気泳動を利用している。ところで一対の電極19を一対の電磁石におきかえ、20の隔離膜をとると磁気泳動装置になり、

磁気泳動により生試料を移動させ上記電気泳動と同等の効果をもたせることができる。

〔発明の効果〕

本発明によれば浮遊生試料を所定領域に移動させ、該領域内の生試料の分布密度を高くし、レーザー照射を行うので、能率的な加工を実現することができる。

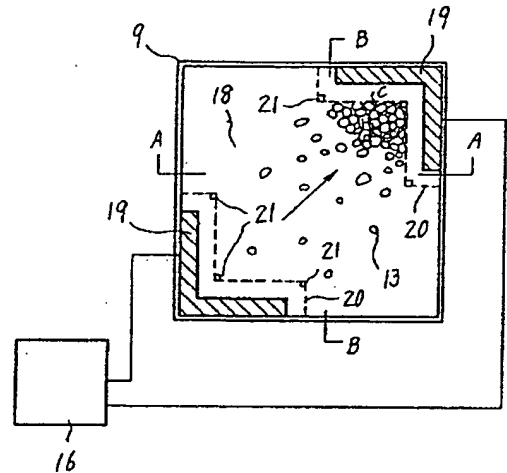
4. 図面の簡単な説明

第1図は本発明の一実施例に係る図、第2図は従来例を示す図、第3図は第2図の光路偏光装置の概念図、第4図及び第5図はレーザー照射状態を示す図である。第6図は本発明の一実施例における全体構成図、第7図は第1図の断面図である。9…試料容器、15…生試料径検出器、16…電源、17…ステージコントローラ、19…電極、20…隔離膜。

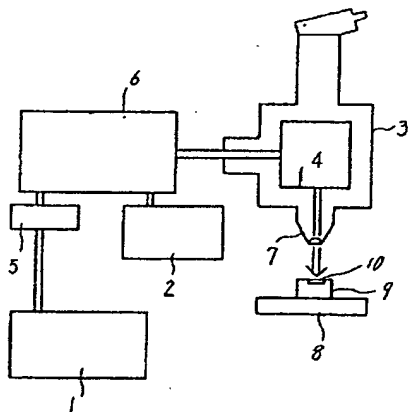
代理人 弁理士 小川勝男



第 1 図

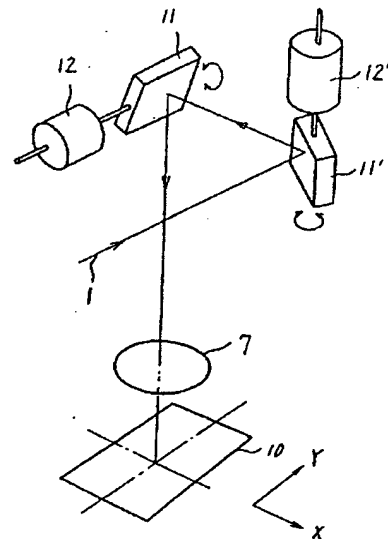


第 2 図



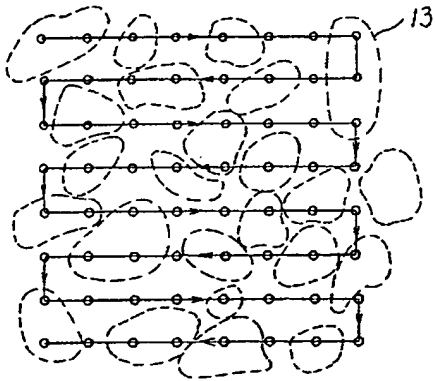
- 1 穿孔用レーザー
- 2 参照用レーザー
- 3 顕微鏡
- 4 光路偏向装置
- 5 シャッター
- 6 光学的化ナズ
- 7 対物レンズ
- 8 ステージ
- 9 試料容器
- 10 試料

第 3 図

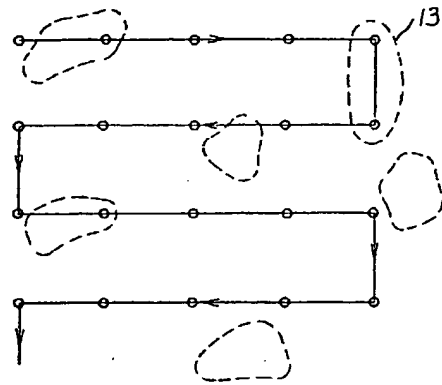


- 1 穿孔用レーザー
- 7 対物レンズ
- 10 試料
- 11, 11' ミラー
- 12, 12' スキャナ

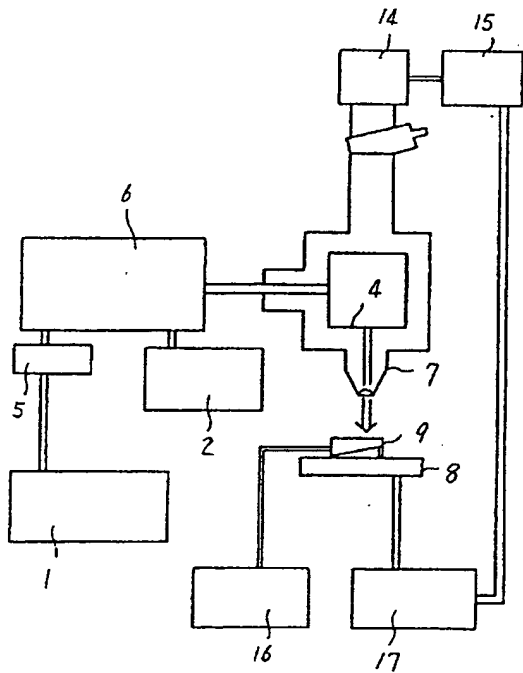
第 4 図



第 5 図



第 6 図



第 7 図

